Vol. 33, No. 1

Feb., 1990

蝗虫微孢子虫对东亚飞蝗的实验感染

王丽英 严毓骅 管致和 (北京农业大学镇保系,北京)

蝗虫微孢子虫 (Nosema locussae Canning) 系 Canning (1953、1962) 从非洲飞蝗 (Locussae migrasoria migrasorioides) 体内分离并命名。Henry (1971、1973)用双带蚱蜢 (Melanoplus bivizzasus) 做替代寄主增殖孢子,用来防治草原蝗虫取得显著成效,后来发展成为第一个商品化的微孢子杀虫剂。

1985 年我们从美国 John. S. Evans 博士处得到蝗虫微孢子虫浓缩液,并成功地在东亚飞蝗体内增殖,从而获得大量孢子。本文报道经东亚飞蝗体内增殖后的孢子超微形态结构、发育过程及孢子产生等方面的观察结果。

材料和方法

一、材料

东亚飞蝗(Locussa mi grasoria manilensis) 采自天津、郑州效区,在养虫室内传代饲养,室温 30±1℃,以玉米叶掺入少量麦麸为饲料。经检查未发现有微孢子虫的健虫。将引自美国的蝗虫微孢子虫浓缩液 1×10°孢子/ml 稀释 1000 倍,涂于玉米叶上,晾干后饲喂 4—5 龄蝗蝻(接种前饥饿 4—6 小时),取食 24 小时后,更换新鲜玉米叶。病虫饲养在装有 40 瓦日光灯、昼夜光照,温度为 30±1℃的接种室内。待蝗蝻发育至老龄或成虫期,收集病死虫尸,加入适量蒸馏水捣碎,差速离心,得沉淀孢子。将孢子再悬浮于蒸馏水中,置于 —20℃ 冰箱中保存备用。

二、形态观察

取接种 15-20 天的感病蝗蝻,解剖取出小块感病脂肪体,涂于盖片上,95% 甲醇固定,Giemsa 染色,光镜观察。将提纯的孢子稀释成 1×10° 孢子/ml,滴于盖片上,用 2.5% 戊二醛固定,经乙醇系列脱水,喷金,SEM-500 扫描电镜观察拍片,取感病后期脂肪组织,用戊二醛-锇酸双固定,环氧树脂包埋,LKB 超薄切片机切片,醋酸铀-柠檬酸铅双染色,EM-100S 透射电镜观察拍片。

三、感染试验

将孢子液稀释成 1×10⁷ 孢子/ml,饲喂 2-5 龄蝗蝻,每组处理 30 头,逐日统计病死虫数,再将病死虫尸分别捣碎,制水压片,逐个镜检,查出有孢子者为感病虫尸。孢子量测定:对每头病死虫尸提取孢子液,纯化后用血球计数板计数。

实 验 结 果

一、形态与发育过程

微孢子虫接种东亚飞蝗产生裂殖体近圆形,有单核、双核、四核(图版 I: 1—6)。Canning(1962)观察到产孢体为单核,呈椭圆形,经分裂成双核后发育为成熟孢子。作者在实验中观察到产孢体为双核,再分裂成双核子代,发育为成熟孢子(图版 I:7)。孢子母细胞呈长椭圆形,双核(图版 I:8),进一步发育

本文于1987年1月收到。

成为成熟孢子。

成熟孢子椭圆形,大小不一,平均 2.4×5.2μm。特殊狭长孢子,长度可为正常孢子长度的 2-3 倍,扫描电镜下可看到孢子表面有花壳样的刻痕(图版 l:10),孢子一端呈圆弧形,另一端顶部有凹陷。

透射电镜下观察孢子纵切面可见到孢子内部微细结构(图版 1:11)。极丝横切面呈三圈(图版 1:12),每侧有 17—19 个极丝圈,呈单层排列。位于孢子中部有 2 个细胞核,两侧为内质网。孢子后端有一个后极胞,孢子前端极丝两侧有称为极体的多层膜状结构。

我们在刚刚死亡的虫体腔内观察到很多释放极丝的孢子(图版 1:9), 极丝从孢子一端翻出,长度为 120 μm 左右,不少极丝前端有一小块孢原质。

二、致病作用与孢子产生情况

用微孢子虫感染东亚飞蝗,初期无明显外部染病特征,当蝗蝻进入老龄或成虫期后,感病严重的虫体腹部发软、肿胀、呈红褐色;皮脱不下来或死于脱下的皮蜕内;翅皱缩;发育期拖长,最后死亡。健虫脂肪体黄色透明;片状;病生脂肪体则变得不透明,呈乳白色(图版 I:13),其中充满大量孢子。

2 龄蝗蝻接种微孢子虫,大多数个体死于5 龄前;3 龄蝗蝻接种后,则有少数个体可发育到成虫, 4—5龄蝗蝻接种后大部分能发育到成虫,但多成为带病成虫。

用不同浓度的微孢子虫饲喂 4 龄蝗蝻,经 10-15 天在寄主体内出现成熟孢子, 25-30 天可见大量孢子产生。从表 1 中即可看到孢子在寄主体内大量生成情况,其中单头蝗虫可产生 4×10°孢子。

孢子 试虫头数 接种浓度 (孢子数/ml)	_	>4×10°孢子/头 试虫数	>1×10°孢子/头 试虫数	>1×10 ⁸ 孢子/头 试虫数	<1×10 ⁸ 孢子/头 试虫数	产生孢子的总头数
1×10'	30	5	1	2	10	18
1×10	30	8	7	3	11	29
1×10°	30	6	6	3	13	28

表 1 4 龄螅螅接种不同浓度孢子液产生孢子量情况表

实验表明,蝗虫微孢子虫能在东亚飞蝗体内增殖,产生大量孢子,飞蝗是一个较好的繁殖寄主,这为研究利用该病原物提供了可能性。

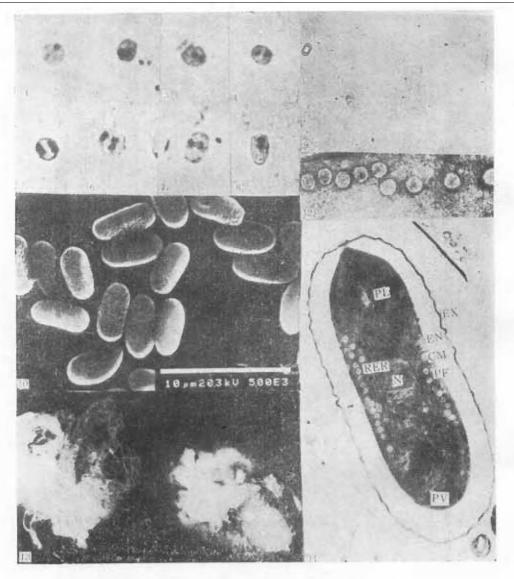
参考文献

- Canning, E. U. 1953 A new microsporidian Nosema Loustae n. sp. from the fat body of the African migratory locust, Locusta migratoria migratorioides R. F. Parasitol. 43: 287-90.
- Comming E. U. 1962 The life cycle of Noscona locustae Carming in Locusta migratoria migratorioides (Reiche and Fairmaie), and its infectivity to other hosts. J. Insect Pathol. 4: 234-47.
- Henry, J. E. 1971 Experiment application of Nosema locustae. for control of grasshoppers. J. Inversebr. Pathol. 18: 389-94.
- Henry, J. E., R. Tiahrt & E. A. Oma, 1973 Importance of timing, spore concentrations, and spore carrier-levels in application of Nosema locustae Microsporida: Nosematidae) for control of grasshopper. J. Inverselve. Pathol. 21: 263—72.

EXPERIMENTAL INFECTION OF NOSEMA LOCUSTAE CANNING IN THE ORIENTAL MIGRATORY LOCUST [LOCUSTA MIGRATORIA MANILENSIS (MEYEN)]

WANG LI-YING YAN YU-HUA KUAN ZHI-HU
(Department of Plant Protection, Beijing Agricultu-al University, Beijing)

更正: 本刊 1988 年31卷第 1 期第 80 页图 1 的图应与 81 页图 3 的图对换。



- 1.单核裂殖体 ×1584
- 2-4.双核裂殖体,显示核分裂过程 ×1584
- 5-6.四核裂殖体 ×1584
- 7.产孢体 ×1584
- 8. 孢子母细胞 ×1584
- 9.极丝,端部为孢原质 ×360
- 10.成熟孢子,表面有花生壳样花纹
- 11.成熟孢子, N: 核, RER: 粗糙内质网, EX: 孢子外壁, EN: 孢子内壁, CM: 细胞质膜, PL: 极体, PF: 极丝, PV: 后极泡
- 12.极丝横切面 ×40000
- 13. 左图为健虫脂肪体,片状,黄色透明;右图为病虫脂肪体,团块状、乳白色不透明